

Onderzoek naar aanwezigheid van legionella in biologische luchtwassers bij stallen

R.W. Melse, J.A.C. Schalk, A.A. Bartels

LIVESTOCK RESEARCH
WAGENINGEN UR

Onderzoek naar aanwezigheid van legionella in biologische luchtwassers bij stallen

R.W. Melse[1], J.A.C. Schalk[2], A.A. Bartels[2]

[1] WUR Livestock Research
[2] RIVM

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen UR Livestock Research, in opdracht van en gefinancierd door het Ministerie van Economische Zaken, in het kader van het Beleidsondersteunend onderzoek thema 'Stalemissies' (projectnummer BO-20-004-049)

Wageningen UR Livestock Research
Wageningen, juli 2015

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu
Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport

Livestock Research Rapport 891

LIVESTOCK RESEARCH
WAGENINGEN UR

R.W. Melse, J.A.C. Schalk, A.A. Bartels, 2015. *Onderzoek naar aanwezigheid van legionella in biologische luchtwassers bij stallen.* Wageningen, Wageningen UR (University & Research centre) Livestock Research, Rapport 891.

Synopsis NL. In een eerder onderzoek werd aan de hand van literatuur en interviews geconcludeerd dat verspreiding van legionella naar de omgeving door biologische luchtwassers theoretisch mogelijk is, mits de temperatuur van het waswater voldoende hoog is (Bartels et al., 2013). Deze conclusie is gebaseerd op de geldende procesomstandigheden in deze systemen: de aanwezigheid van recirculerend water met een pH van rond de 7 en het gebruik van sproeiers en ventilatoren. Om na te gaan of hiervan sprake is in de praktijk, zijn in het hier beschreven onderzoek 36 biologische luchtwassers bij stallen onderzocht en is bepaald of legionella voorkomt in het waswater. Het onderzoek is uitgevoerd aan het eind van de zomer (augustus en septemeber) omdat tijdens deze periode in verschillende jaren sprake was van een significante verhoging van het aantal meldingen van veteranenziekte; in de worden zomer relatief gunstige groeiomstandigheden voor legionella verwacht. In geen van de monsters werd echter legionella aangetroffen. In slechts enkele van de wassers was het niveau van de temperatuur van het waswater dusdanig dat legionellagroei mogelijk zou zijn (> 22°C). Op basis hiervan wordt geconcludeerd dat het niet waarschijnlijk is dat biologische luchtwassers bij veehouderijbedrijven een bron zijn van legionellaverspreiding naar de omgeving.

Synopsis UK. In an earlier study it was concluded, based on literature and interviews, that biotrickling filters might be responsible for airborne transmission of *Legionella* bacteria. Risk factors in this type of systems are recirculating of trickling water with a pH close to neutral and the use of spray nozzles and fans. Under the right conditions, temperatures supportive for *Legionella* growth might be found in the scrubbing water (Bartels et al., 2013). In order to investigate this risk, measurements were done at 36 animal houses where biotrickling filters were operated for exhaust air treatment. The investigation was performed in August and September because in several years the number of reports of Legionnaires' disease significantly increased during this period in the Netherlands; during summer warming up of the water by ambient temperature is likely. In none of the samples *Legionella* was found. In only a few biotrickling filters the measured temperature was at such a level that growth of Legionella would be possible. It is concluded that it is unlikely that biotrickling filters at animal houses are a source of *Legionella* transmission to the air.

Livestock Research Rapport 891

Inhoud

Woord vooraf

Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van het Ministerie van Economische Zaken binnen het beleidsondersteunend (BO) onderzoekscluster Mest, Milieu & Klimaat.
We willen graag de veehouders bedanken die bereid waren om hun luchtwassers te laten bemonsteren. Verder willen we Martijn Bouwknegt bedanken voor de statistische analyses en Lianne Kerkhof en Anne van Deursen voor het uitvoeren van de microbiologische analyses, allen werkzaam bij het RIVM. Daarnaast willen we Nico Ogink, Ana Maria de Roda Husman en Lianne Kerkhof bedanken voor het kritisch doorlezen van het rapport. De foto's in dit rapport zijn tijdens de bezoeken gemaakt door Alvin Bartels. Voor het nemen van de foto's en opname ervan in dit rapport is toestemming gegeven door de veehouders.

De auteurs

Samenvatting

Luchtwassers zijn installaties die worden gebruikt om ongewenste gassen of geuren, chemische of organische stoffen te verwijderen uit lucht of gas. In een studie uit 2013 is op basis van literatuur en interviews geconcludeerd dat biologische luchtwassers en stofwassers, binnen veehouderij en industrie, een mogelijke bron zijn van groei en verspreiding van legionellabacteriën, op grond van de overeenkomsten met koeltorens (een bekende bron bij uitbraak van legionella-longontstekingen) (Bartels et al., 2013). Net als bij koeltorens wordt water gerecirculeerd over een kunststof pakkingsmateriaal, wordt de lucht actief door de installatie gehaald met ventilatoren en wordt gebruikgemaakt van meerdere sproeiers die een fijne waternevel produceren. Tevens is bij stofwassers en biologische luchtwassers de pH gunstig voor legionellagroei en zou, door opwarming van het waswater, ook de temperatuur in de wassers gunstig kunnen zijn voor legionellagroei. Hierdoor zou dit type luchtwassers een risico kunnen betekenen voor omwonenden.

Het Ministerie van Economische Zaken heeft in een brief aan de Tweede Kamer, met daarin een reactie op de studie uit 2013, aangegeven dat in overleg met Wageningen UR en RIVM zal worden nagegaan of het mogelijk is om de relevante parameters van de verschillende typen luchtwassers in de veehouderij te monitoren. Daarom is een onderzoek uitgevoerd waarbij 36 biologische luchtwassers binnen de veehouderij zijn bezocht en bemonsterd. Het doel van deze steekproef was:

- Vast te stellen of de condities in biologische wassers bij stallen inderdaad vermeerdering van legionella bevorderen, door te bepalen of *Legionella spp.* aanwezig zijn in het recirculatiewater;
- Door middel van een korte risicoanalyse voor elke luchtwasser vast te stellen of er sprake is van omstandigheden die kunnen zorgen voor vermeerdering van legionella (o.a. aanwezigheid gunstige temperatuur en pH).
- Vast te stellen of, naast de adviezen voor legionellapreventie uit de eerdere studie (Bartels et al., 2013), nog aanvullende maatregelen nodig zijn voor biologische luchtwassers in de veehouderij, en zo ja welke.

Het onderzoek is uitgevoerd aan het eind van de zomer omdat tijdens deze periode in verschillende jaren sprake was van een significante verhoging van het aantal meldingen van veteranenziekte; in de zomer worden relatief gunstige groeiomstandigheden voor legionella verwacht.

Uit de resultaten van het onderzoek blijkt dat bij 8 van de 36 bezochte locaties (22% van totaal aantal) het waswater een pH had waarbij groei van legionella goed mogelijk is (pH 5,5-9,2) én een temperatuur had $\geq$ 22°C, de temperatuur waarbij legionella goed kan groeien. Bij de overige locaties leek legionellagroei op basis van de gemeten pH en/of temperatuur minder waarschijnlijk. Desalniettemin is bij geen enkele geanalyseerde luchtwasser *Legionella spp.* aangetroffen in het waswater. Het aantal biologische luchtwassers binnen de Nederlandse veehouderij wordt ingeschat op maximaal 300. Op basis van de steekproefgrootte en de gebruikte methode kan daarom met een betrouwbaarheid van 98% gesteld worden dat de kans op het aantreffen van een biologische luchtwasser met een detecteerbare hoeveelheid legionella (> 3.300 kve/L) minder dan 10% is. Hieruit volgt dat het niet waarschijnlijk is dat biologische luchtwassers die binnen de veehouderij worden gebruikt legionella verspreiden naar de woonomgeving.

Bij 10 van de bezochte locaties (28% van totaal aantal) werden pH-waarden van het waswater gevonden die lager zijn dan 6,5 terwijl een pH-waarde van 6,5 wordt gehanteerd als minimum voor een normaal functionerende biologische luchtwasser. Bij 4 luchtwassers werden zelfs pH-waarden ≤4 gevonden. Hierdoor bestaat het risico dat een (grote) hoeveelheid lachgas (N_2O) of stikstofmonoxide (NO) wordt gevormd en geëmitteerd. Daarom wordt aanbevolen om een aantal van deze luchtwassers nader te onderzoeken en na te gaan hoe groot deze emissies zijn.

Verder bleek tijdens de bezoeken dat een aantal luchtwassers moeilijk toegankelijk was. Een slechte toegankelijkheid zal er naar verwachting toe leiden dat onvoldoende controle- en onderhoudswerkzaamheden worden uitgevoerd door de veehouder. Wij zijn van mening dat meer aandacht nodig is voor het belang van een goede bereikbaarheid, hoog-kwalitatief onderhoud en visuele controle van de luchtwassers binnen de veehouderij.

In de eerdere genoemde studie (Bartels et al., 2013) werd aangegeven dat naast biologische luchtwassers binnen de veehouderij ook biologische luchtwassers en stofwassers binnen de industrie

legionella zouden kunnen verspreiden naar de omgeving. Aangezien de procesomstandigheden bij industriële luchtwassers sterk kunnen afwijken van de biologische luchtwassers uit dit onderzoek, kunnen geen uitspraken worden gedaan over de risico's voor de omgeving bij gebruik van industriële luchtwassers. Daarom wordt aanbevolen om bij industriële stofwassers en biologische luchtwassers een vergelijkbaar onderzoek uit te voeren.

Summary

Air scrubbing techniques are used for removal of pollutants from air. In an earlier study it was concluded, based on literature and interviews, that biotrickling filters and wet dust filters, both at animal houses and in industry, are a possible source of growth and airborne transmission of *Legionella* (Bartels et al., 2013). This was based on the fact that these systems show resemblance to cooling towers (which are a known source of *Legionella* in outbreaks of *Legionella* pneumonia) and are expected to have pH and temperature levels that would allow growth of *Legionella*. As such, these scrubbing systems could pose a risk to people living in the vicinity of the farms. With this background the Dutch Ministry of Economic Affairs commissioned a survey in which 36 biotrickling filters operated at animal houses were visited and investigated. The aim of this survey was to:

- Find out if the process conditions of biotrickling filters at animal houses allow growth of *Legionella*, by determining the presence of *Legionella* spp. in the recirculating trickling water;
- Make a short risk assessment of each scrubber by determining what risk factors for growth of *Legionella* are present (e.g. favourable temperature and pH levels).
- Determining if, besides the preventive measures mentioned in the previous study (Bartels et al., 2013), additional measures are necessary for biotrickling filters at animal houses. And if so, what measures this should be.

The investigation was performed in August and September because in several years the number of reports of Legionnaires' disease significantly increased during this period in the Netherlands; during summer warming up of the water by ambient temperature is likely.

The results show that at 8 of the biotrickling filters (22% of total number) both pH and temperature level of the trickling water could allow growth of *Legionella* (pH 5.5-9.2 ; temperature $\geq$ 22°C). At the other locations growth of *Legionella* would be less likely on basis of pH and/or temperature level. Nevertheless, at none of the biotrickling filters *Legionella* spp. were found in the trickling water. Based on the sampling size and the results of the study, it is concluded with 98% confidence that the chance to find a biotrickling filter with *Legionella* spp. at a detectable concentration (> 3,300 cfu/L) is less than 10%. Therefore it is unlikely that biotrickling filters at animal houses are a source of *Legionella* transmission to the air.

For 10 of the biotrickling filters (28% of total number) the pH of the trickling water was found to be below 6.5, whereas a pH level of 6.5 is usually considered as the minimum level required for normal operation. At 4 biotrickling filters even pH levels ≤4 were found. As a result of these low pH levels, (considerable) amounts of nitrous oxide (N_2O) or nitric oxide (NO) may be produced and emitted. It is recommended to further investigate these scrubbers in order to determine the level of these emissions.

Furthermore, it was found during the visits that a number of scrubbers were built on places that were difficult to access. This may lead to poor maintenance quality and insufficient checking of operational and process parameters by the farmer. We think that more attention should be paid to ease of physical access to the installation, high-quality maintenance and visual checking of air scrubbers operation at animal houses.

The study of 2013 (Bartels et al., 2013) indicated that, besides biotrickling filters at animal houses, wet dust scrubbers and biotrickling filters applied in industry might also pose a risk with regard to airborne *Legionella* transmission. Because process conditions at these industrial air scrubbers might be very different from the scrubbers in this research, no conclusions can be drawn with regard to these industrial air scrubbers. Therefore it is recommended to perform a similar research at industrial wet dust scrubbers and biotrickling filters.

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

In 2013 is een studie verschenen naar het risico van verspreiding van legionellabacteriën door luchtwassers, zowel binnen de industrie als de veehouderij (Bartels et al., 2013).
Luchtwassers zijn installaties die worden gebruikt om ongewenste gassen of geuren, chemische of organische stoffen te verwijderen uit lucht of gas. Meestal wordt hiervoor water als wasmedium gebruikt. De aanleiding voor de studie waren vragen die het Landelijk Centrum Hygiëne en Veiligheid (RIVM-LCHV) van zowel GGD'en als milieudiensten kreeg over mogelijke verspreiding van legionellabacteriën door luchtwassers[1] en de eventuele noodzaak van legionellapreventie bij deze installaties.
Deze vragen werden gesteld omdat de toezichthouders van de gemeente bij de verplichte registratie van natte koeltorens ook luchtwassers tegenkwamen. Koeltorens worden gebruikt om een bedrijfsproces te koelen of ingezet bij de klimaatregulering van gebouwen. Deze installaties lijken qua werkingsprincipe veel op luchtwassers: bij zowel luchtwassers als koeltorens is er vaak een kunststof pakkingsmateriaal aanwezig, wordt het water gerecirculeerd over deze pakking (bij een luchtwasser ook wel "waspakket" genoemd), wordt de lucht actief door de installatie gehaald met ventilatoren en gebruikgemaakt van meerdere sproeiers die fijne waternevel produceren.
Koeltoreninstallaties hebben meerdere keren een uitbraak van legionella-longontsteking veroorzaakt, waaronder één keer in Nederland nabij Amsterdam CS (Sonder et al., 2008). In koeltorens zijn vaak gunstige omstandigheden voor vermeerdering van legionella. Door de aanwezigheid van sproeiers en ventilatoren is verspreiding van deze bacteriën tot op enkele kilometers in de omgeving mogelijk (Walser et al., 2014).
Bij een legionella-longontsteking-uitbraak in Noorwegen werd aanvankelijk een industriële luchtwasser aangewezen als de bron (Nygård et al., 2008). Uit vervolgonderzoek door Olsen et al. (2010) bleek echter dat de luchtwasser de bron hoogstwaarschijnlijk niet kon zijn omdat de betreffende legionella-stammen niet langer dan 2 dagen na incubatie overleefden in waswater-media met de toen voorkomende procescondities. Daarentegen concludeerden zij op basis van watermonsters dat de naastgelegen waterzuiveringsinstallatie en rivier zeer waarschijnlijk verantwoordelijk waren voor de verspreiding van de legionellabacteriën.
De overeenkomsten met koeltorens en de onduidelijkheid of luchtwassers virulente legionella kunnen verspreiden naar de omgeving waren de aanleiding om nader onderzoek te doen naar aanwezigheid van legionella in luchtwassers (Bartels et al., 2013). In die studie zijn op basis van literatuuronderzoek en interviews de verschillende typen luchtwassers, die toegepast worden in industrie en veehouderij, onderverdeeld in risicocategorieën. Deze onderverdeling is gebaseerd op de twee belangrijkste parameters: de zuurgraad en de temperatuur van het waswater. De optimale groeitemperatuur voor legionella is 37°C. De kans op groei van legionella is aannemelijk als de temperatuur van het water tussen de 22 en 45°C ligt in combinatie met een zuurgraad tussen pH 5,5-9,2 (Bartels et al., 2013).
De kans op groei van legionella is zeer onwaarschijnlijk als de zuurgraad laag (pH ≤4, zuur waswater) of hoog is (pH >9, basisch waswater) (Bartels et al., 2013). De combinatie van een watertemperatuur tussen de 22 en 45°C en een gunstige zuurgraad zou zich kunnen voordoen in biologische luchtwassers en stofwassers in de industrie en de veehouderij (Bartels et al., 2013).
Ingeschat wordt dat op dit moment ongeveer 1.500 - 2.000 luchtwassers in gebruik binnen de Nederlandse intensieve veehouderij zijn (Melse et al., 2009; Ehlert en Chardon, 2014; Vries en Melse, 2015).Voor het overgrote deel betreft dit varkensbedrijven en in een kleiner aantal gevallen pluimveebedrijven. Circa 85% van de luchtwassers betreft zure wassers (ook wel genoemd: 'chemische wassers') met een zuurgraad van 4 of lager waarin groei van legionella niet waarschijnlijk is. De overige 15%, dus ca. 225 - 300 luchtwassers, bestaat uit biologische luchtwassers (incl. combi-luchtwassers met een biologische stap) waarbij de pH zich in de regel tussen 4 en 9 zal bevinden

[1] In dit rapport wordt de term 'luchtwasser' gebruikt voor natte luchtwasinstallaties die water als wasmedium gebruiken om ongewenste gassen of geuren, chemische of organische stoffen te verwijderen uit lucht of gas.

(Melse en Ogink, 2005); in deze wassers is groei van legionella aannemelijk wanneer de watertemperatuur in de wassers gunstig is. De temperatuur van het waswater kan (lokaal) stijgen als het waswater bijvoorbeeld wordt opgewarmd door apparaten in de directe omgeving, door warmteoverdracht van de te reinigen lucht of door een hoge buitentemperatuur. Uit onderzoek blijkt verder dat de watertemperatuur van luchtwassers in de zomer hoger kan liggen dan in de winter (Melse en Ploegaert, 2012). Daarom wordt in de eerder genoemde studie van Bartels et al. (2013) geconcludeerd dat door de gunstige pH en temperaturen groei en verspreiding van legionellabacteriën bij biologische luchtwassers binnen de veehouderij niet uit te sluiten is. Ziektegevallen van legionella-longontsteking veroorzaakt door luchtwassers in de veehouderij zijn niet bekend, maar luchtwassers worden bij bronopsporing ook niet onderzocht. Er zijn geen aanwijzingen dat het feit dat de lucht afkomstig is van een stal, en dus in contact is geweest met dieren en mest, een rol zou spelen bij eventuele groei of verspreiding van legionella bij luchtwassers. Aangenomen wordt dat het risico op aanwezigheid van legionella alleen wordt beïnvloed door constructie en procesomstandigheden van het luchtwassysteem zelf. Data over prevalentie van legionella in luchtwassers zijn niet beschikbaar waardoor het niet mogelijk is een inschatting te maken van het daadwerkelijke risico voor de volksgezondheid.

1.2 Doelstelling

Naar aanleiding van de studie door Bartels et al. (2013) heeft de staatsecretaris van Economische Zaken in reactie hierop aan de Tweede Kamer aangegeven dat, voor wat betreft de luchtwassers in de veehouderij, in overleg met Wageningen UR en RIVM vervolgonderzoek zal worden geformuleerd om nader in kaart te brengen hoe groot het risico voor de volksgezondheid is (EZ, 2014). De resultaten van dit vervolgonderzoek worden beschreven in voorliggend rapport.

Het doel van het vervolgonderzoek was om middels een steekproef bij een representatief aantal biologische luchtwassers binnen de veehouderij:

1) Vast te stellen of de condities in biologische luchtwassers bij stallen aanwezigheid van legionella toelaten, door te bepalen of *Legionella spp.* aanwezig zijn in het recirculatiewater en zo ja, of daarbij virulente stammen aanwezig zijn;
2) Door middel van bedrijfsbezoeken via een korte risicoanalyse van de luchtwasser vast te stellen of er sprake is van omstandigheden waarbij kans is op vermeerdering van legionella. De belangrijkste elementen hierbij zijn het meten van de temperatuur en pH van het waswater en het kijken of er punten zijn in het systeem waar opwarming van het waswater kan plaatsvinden, bijvoorbeeld door hoge buitentemperaturen of door warmtebronnen in de buurt van de luchtwasser;
3) Vast te stellen of, naast de adviezen voor legionellapreventie uit de eerdere studie (Bartels et al., 2013), nog aanvullende maatregelen nodig zijn voor biologische luchtwassers in de veehouderij, en zo ja welke.

Aannemende dat bij het gebruik van biologische luchtwassers emissie van aerosolen plaatsvindt waarmee legionella het milieu in kan worden gebracht, zou aanwezigheid van legionella in het waswater een risico voor omwonenden betekenen. Mocht in het waswater legionella worden gevonden, dan zou een eventueel vervolgonderzoek zich kunnen richten op de vraag in welke mate de bacteriën naar de omgeving verspreid worden.

Dit onderzoek beperkt zich tot biologische luchtwassers bij veehouderijen. Met de resultaten van dit onderzoek kunnen geen uitspraken worden gedaan over de risico's op verspreiding van legionella naar de omgeving bij gebruik van industriële luchtwassers, aangezien de procesomstandigheden bij industriële luchtwassers sterk kunnen afwijken van de onderzochte biologische luchtwassers.

2 Materiaal en Methoden

2.1 Algemeen

In het kader van het onderzoek zijn 36 biologische luchtwassers bezocht en bemonsterd. Zoals in de inleiding aangegeven, wordt het aantal biologische luchtwassers binnen de Nederlandse veehouderij ingeschat op maximaal 300. Bij de gekozen steekproefgrootte (n) kan dan berekend worden dat bij negatieve resultaten met een zekerheid van 98% kan worden vastgesteld dat minder dan 10% van de biologische wassers besmet is met legionella. Dit is berekend volgens de principes van een binomiaal proces, met de volgende formule (Noordhuizen et al., 1997):

$$n = \left(1 - (1-p)^{\frac{1}{N \times P}}\right) \times \left(N - \frac{(N \times P - 1)}{2}\right)$$

Hierin is *P* de prevalentie van legionella besmetting (gesteld op 10%, of 0.10), *N* het aantal luchtwassers in Nederland (gesteld op maximaal 300, zie paragraaf 1.1) en *p* de gewenste kans dat er minstens één positief monster wordt gevonden (gesteld op 98%, of 0.98). Hierbij werd aangenomen dat de diagnostische test een positief resultaat aangeeft indien *Legionella* spp. in de luchtwasser aanwezig is.
Bij de keuze van de locaties werd ernaar gestreefd om luchtwassers te kiezen van verschillende leveranciers en technische uitvoering, voor zover er van dit laatste sprake was. Daarnaast is gestreefd naar geografische spreiding door biologische luchtwassers te selecteren die zich bevinden in de provincies Utrecht, Brabant, Limburg, Gelderland en Overijssel. Aangezien luchtwassers, zowel biologische luchtwasssers als chemische wassers, meestal op varkensbedrijven worden toegepast, betroffen de meeste bezochte locaties varkensbedrijven; in twee gevallen betrof het een pluimveebedrijf (LW3 en LW17).
De bezoeken zijn uitgevoerd in augustus-september 2014, dus aan het eind van de zomer. Er is gekozen voor deze periode omdat in verschillende jaren, waaronder 2006 en 2010, aan het eind van de zomer een verhoogd aantal patiënten met een legionella-longontsteking werd gemeld (Brandsema et al. 2014; Karagiannis et al., 2009). In de zomerperiode kan gedurende langere tijd sprake zijn geweest van relatief hoge omgevingstemperaturen waardoor de kans op legionellavermeerdering groter is.
De luchtwassers zijn bezocht door een medewerker van WUR-LR en van RIVM. Tijdens de bezoeken is nagegaan of er risicofactoren aanwezig zijn die kunnen leiden tot legionellagroei in het waswater, wat de oorsprong is van het waswater (drinkwaterbedrijf of eigen winning) en waar de wasser staat ten opzichte van de (woon)omgeving. Daarnaast zijn er waswatermonsters genomen en is direct na de monstername de pH, temperatuur en elektrische geleidbaarheid (EC) van het monster gemeten.
Tijdens de bezoeken werd gebruik gemaakt van een invulformulier waarop de belangrijkste kernmerken en omgevingsfactoren van het luchtwassysteem werden genoteerd die van invloed kunnen zijn op de legionellagroei en -verspreiding. Dit invulformulier is opgenomen in Bijlage 1.
In onderstaande paragrafen wordt in meer detail ingegaan op de uitgevoerde werkzaamheden.

2.2 Locatiespecifieke risicofactoren

Met behulp van de genoemde vragenlijst (zie Bijlage 1) is nagegaan of er factoren zijn in of nabij het luchtwassysteem die kunnen zorgen voor legionellagroei en eventuele verspreiding naar de omgeving.

De volgende risicofactoren voor legionellagroei zijn bekeken:
- Aanwezigheid van biofilm; zowel op het kunststof pakkingsmateriaal, de druppelvanger als elders in of nabij de wasser;
- Aanwezigheid van organisch materiaal en sediment zoals bladeren en kalk;
- Achterstallig onderhoud zoals verstopte sproeiers;

- Warme apparatuur die geplaatst is in of nabij (leidingen van) de wasser;
- Opwarming vanwege de positie van de wasser in de stal en de oriëntatie ten opzichte van de zon.

Voor de eventuele verspreiding van legionella naar de omgeving is gekeken naar:
- De aanwezigheid van een druppelvanger;
- De hoogte van de uitlaat van de wasser ten opzichte van de grond;
- De afstand tot de dichtstbijzijnde grens van een dorp of stad (woonomgeving). Waarbij gekeken is of de luchtwasser binnen een straal van <600 m gelegen is van een woonomgeving; overeenkomstig de risicocategorie-indeling voor natte koeltorens (Activiteitenregeling 3.16a; VROM, 2007);
- De afstand tot de dichtstbijzijnde N- en A-wegen.

2.3 Metingen op locatie

Op elke locatie is tijdens het bezoek de watertemperatuur gemeten van de drie waswatermonsters (zie paragraaf 2.4). Daarnaast is de luchttemperatuur gemeten van de inkomende lucht (de stallucht) van de wasser en van de lucht in de (werk)ruimte waarin zich meestal de recirculatiepomp, een deel van de recirculatieleiding voor het waswater en het bedieningspaneel van de luchtwasser bevinden. Hierbij is zowel de ruimtetemperatuur als de temperatuur vlak bij leidingen of pompen gemeten (zie Figuur 1).



Figuur 1 *Temperatuurmeting bij de pomp waarmee het waswater wordt gerecirculeerd.*

Op sommige locaties is alleen de hoogst gevonden temperatuur in de (werk)ruimte genoteerd. Daarnaast werden tijdens het bezoek de pH en de elektrische geleidbaarheid (EC) van de waswatermonsters gemeten. Beide parameters kunnen gebruikt worden ter indicatie van het al dan niet normaal functioneren van de luchtwasser. Bij een goed functionerende biologische luchtwasser voor de behandeling van stallucht wordt een pH-range van 6,5 tot 7,5 als normaal verondersteld (Melse en Ogink, 2005); hogere of lagere waarden duiden meestal op een gestoorde procesvoering.

Daarnaast is de waarde van de pH, zoals eerder opgemerkt, een belangrijke parameter met betrekking tot de kans op legionellavermeerdering. De waarde van de EC dient maximaal 15 - 18 mS/cm te bedragen bij normaal functioneren (VROM, 2013); bij hogere waarden bestaat de kans op remming van het nitrificatieproces door ammonium en/of nitriet waardoor de ammoniakverwijdering van de luchtwasser kan afnemen.

2.4 Monstername en -vervoer waswater

Van elke luchtwasser zijn 3 monsters van 200 of 500 ml waswater genomen op verschillende plekken in het luchtwassersysteem, dit om de kans op detectie te vergroten. In het systeem kunnen de lokale omstandigheden verschillen, zoals lokale opwarming door de recirculatiepomp of bijvoorbeeld weinig doorstroming in de hoek van een bassin. De volgende punten zijn bemonsterd:
- **A.** bij de sproeiers: direct onder de sproeier is het vernevelde water opgevangen;
- **B.** aan zijkant of in de hoek van het waswaterbassin: de plek met de minste doorstroming in het systeem;
- **C.** recirculatieleiding: een monster is genomen van een aftapkraan in de recirculatieleiding (zie Figuur 2).

Vanwege de constructie van enkele wassers, was het niet altijd mogelijk de recirculatieleiding of de sproeiers te bemonsteren. In deze situaties is ervoor gekozen een monster te nemen op een andere plek in het waswaterbassin of van water afkomstig van een eventueel aanwezige stofwasstap.
Indien mogelijk, werd het monster van de recirculatieleiding genomen door direct het water uit de kraan in de fles te tappen; er werd niet eerst doorgespoeld met als doel om een deel van het minder doorstroomde water op te vangen. Voor het bemonsteren van het waswater in het bassin en bij de sproeiers is gebruik gemaakt van een roestvrijstalen pannetje met lange steel (2 m). Via een trechter is vervolgens het water in de fles gegoten (zie Figuur 3). Na elk bezoek is het pannetje en de trechter omgespoeld.
Daarnaast werd ter plaatse de pH en de elektrische geleidbaarheid (EC) van de waswatermonsters bepaald.



Figuur 2 *Monstername van recirculatieleiding waswater.*

De watermonsters zijn binnen een half uur na monstername in een koelbox met koelelementen geplaatst en vervolgens binnen 8 uur naar het RIVM gebracht. Enkele monsters zijn een dag later naar het RIVM gebracht (binnen 32 uur). Deze monsters zijn de hele periode bewaard en vervoerd in een afgesloten koelbox met elektrische koelmotor en losse koelelementen. Na aankomst bij het RIVM werden de monsters opgeslagen bij 4°C. Binnen 24 uur werden de monsters geanalyseerd op legionella middels kweek op GVPC-platen; legionella-analyse middels amoebe-kweek vond plaats binnen 3-30 dagen.



Figuur 3 *Monstername van bassin door waswater uit bassin te scheppen met steelpannetje.*

2.5 Analyse waswatermonsters

De waswatermonsters werden door het RIVM geanalyseerd op de aanwezigheid van *Legionella spp.* middels kweek op GVPC-platen en middels amoebe-kweek methode. Aanvankelijk is geprobeerd om de monsters te concentreren door middel van filtratie. De monsters waren echter te troebel om gefiltreerd te kunnen worden. Daarom zijn de monsters ongefiltreerd onderzocht op legionella.

2.5.1 Legionella-analyse middels kweek op GVPC-platen

Ieder monster werd uitgeplaat op twee GVPC platen (Oxoid Ltd., Hampshire, UK) waarbij 100 µl per plaat werd uitgespateld. Platen werden vervolgens gedurende zeven dagen geïncubeerd bij 37°C en geïnspecteerd op de aanwezigheid van legionellakolonies, op basis van morfologische kenmerken.
Bij de kweek op GVPC-platen werd in totaal 0,2 ml per monster getest. Ervan uitgaande dat 1 legionellabacterie in 0,2 ml aangetoond kan worden met behulp van kweek op GVPC-platen, is de theoretische detectiegrens 1000 ml/0,2 ml = 5.000 kolonievormende eenheden (kve)/L.

2.5.2 Legionella-analyse middels amoebe-kweek

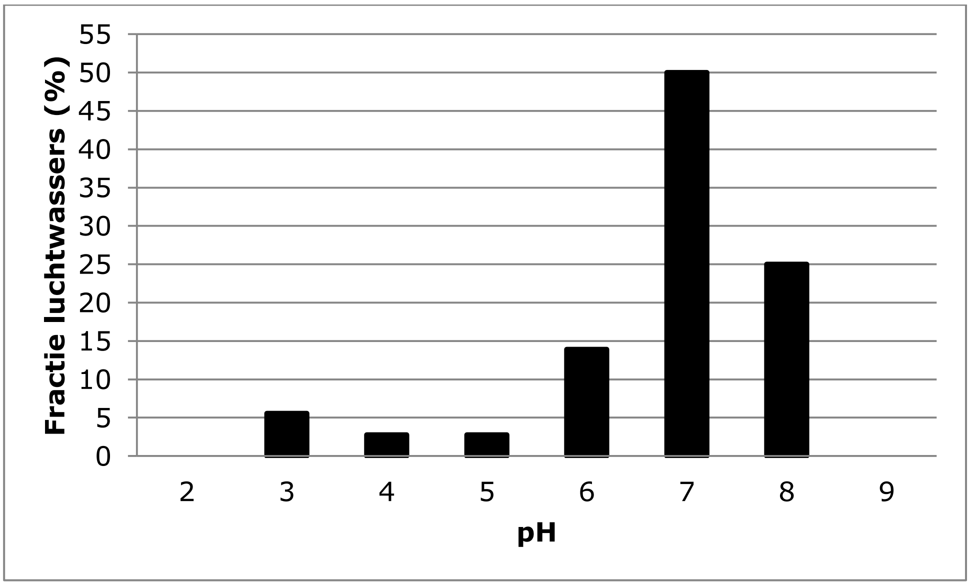
Monsters werden aanvullend geanalyseerd met de amoebe-kweek methode (Schalk et al., 2012). De amoeben, *Acanthamoeba castelanii* (ATCC# 30234), werden gekweekt in 75 cm^2 flessen met 20 ml PYG medium (2% proteose peptone, 0,1% yeast extract, 0,1M D-glucose, 4mM $MgSO_4$, 0,4M $CaCl_2$, 0,1% sodium citrate dehydrate, 0,05mM $Fe(NH_4)2(SO_4)_2.6H_2O$, 2,5 mM NaH_2PO_3, 2,5 mM K_2HPO_3) bij 25 °C. De amoeben werden eenmaal per week in een verdunning van ongeveer 1:10 doorgezet in een nieuwe kweek, waarbij de amoeben werden geresuspendeerd door flink tegen de kweekfles aan te tikken. De amoeben werden op de dag van infectie driemaal gewassen met Page's amoebal saline (PAS, Rowbotham, 1983) om het kweekmedium volledig te verwijderen. Hiertoe werden de amoeben overgebracht in een 50 ml Greiner buis en gedurende 10 minuten afgedraaid bij 2000 rpm. Vervolgens werd het pellet geresuspendeerd in 15 ml PAS en werd weer gedurende 10 minuten afgedraaid bij 2000 rpm. Na de derde keer wassen en afdraaien werd het pellet geresuspendeerd in 15 ml PAS en werd de concentratie van de amoeben bepaald door de cellen te tellen in een Bürker-Türk telkamer. Cellen werden op een concentratie van 5×10^5 cellen/ml PAS gebracht en gezaaid in een 12-wells plaat met 1 ml celsuspensie per well. Aan iedere well werd vervolgens 100µl monster toegevoegd. Per monster werden 3 wells beënt. De 12-wells-plaat werd gedurende 3 dagen bij 32°C geïncubeerd. Bij ieder experiment werd ook één negatieve controle (amoeben zonder legionella) en één positieve controle (suspensie van een legionella-stam) meegenomen. Na 3 dagen incubatie werd de inhoud van elke well geresuspendeerd door met een pipet de inhoud van de well op en neer te pipeteren. Van deze suspensie werd 100 µl doorgezet op verse amoeben en deze werd weer gedurende 3 dagen bij 32°C geïncubeerd. De inhoud van de wells werd opnieuw geresuspendeerd met behulp van een pipet en tienvoudig verdund in PAS-buffer. Van de 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8} en 10^{-9} verdunningen werd 100 µl uitgeplaat op GVPC-platen (Oxoid Ltd., Hampshire, UK). Na 3-7 dagen incubatie bij 37°C werden de platen geïnspecteerd op aanwezigheid van legionella, op basis van morfologische kenmerken. Verdachte kolonies (maximaal 5 kolonies met eenzelfde morfologie) werden ter bevestiging doorgestreken op BCYE-platen met en zonder cysteïne. Legionella heeft cysteïne nodig om te kunnen groeien; legionellakolonies zullen dus wel op platen met cysteïne en niet op platen zonder cysteïne groeien (NNI, 2007). Tijdens het onderzoek is bij 4 monsters een extra well meegenomen waarbij legionella (positieve controle) werd toegevoegd tijdens de incubatie-stap van het waswater op de amoeben. Na uitplaten konden de legionellabacteriën worden teruggevonden wat aangeeft dat vermeerdering van legionella in amoeben niet wordt geremd in aanwezigheid van het waswater.
Bij de amoebe-kweek wordt in totaal 0,3 ml per monster getest. Ervan uitgaande dat 1 legionellabacterie in 0,3 ml aangetoond kan worden met behulp van de amoebe-kweek, is de theoretische detectiegrens 1000 ml/0,3 ml = 3.333 kve/L. Van 1 luchtwasser (LW29) is slechts 1 monster geanalyseerd en van 2 luchtwassers (LW16 en LW23) zijn geen monsters geanalyseerd met de amoebe-kweek, omdat de pH <5 was bij de pH-meting bij het RIVM.

3 Resultaten

3.1 Risicofactoren voor legionellagroei

3.1.1 Zuurgraad

Bij de 36 bezochte veehouderijen met een biologische luchtwasser is ter plaatse de pH gemeten van de genomen waswatermonsters. Van elke luchtwasser zijn 3 monsters genomen, in totaal 108 monsters. Bij de meeste luchtwassers was het pH-verschil tussen de 3 gemeten monsters kleiner dan 1,0. Bij LW6, LW 29 en LW31 werd een verschil van respectievelijk 3,4; 1,3 en 1,6 gemeten tussen het monster met de hoogste en het monster met de laagste pH. In Figuur 4 wordt het resultaat van de pH-metingen van de luchtwassers weergegeven in de vorm van een histogram. De pH-klassen zijn de afgeronde waarden van de metingen; bijv. pH klasse 6 bevat de waarden waarvoor geldt 5,5 < pH ≤ 6,5. Het monster met de meest gunstige pH voor legionellagroei (het dichtst bij pH 7,0) wordt in Figuur 4 opgenomen als pH-waarde voor de luchtwasser. Het aantal luchtwassers dat binnen een bepaalde pH-klasse valt is weergegeven als percentage ten opzichte van het totale aantal luchtwassers.



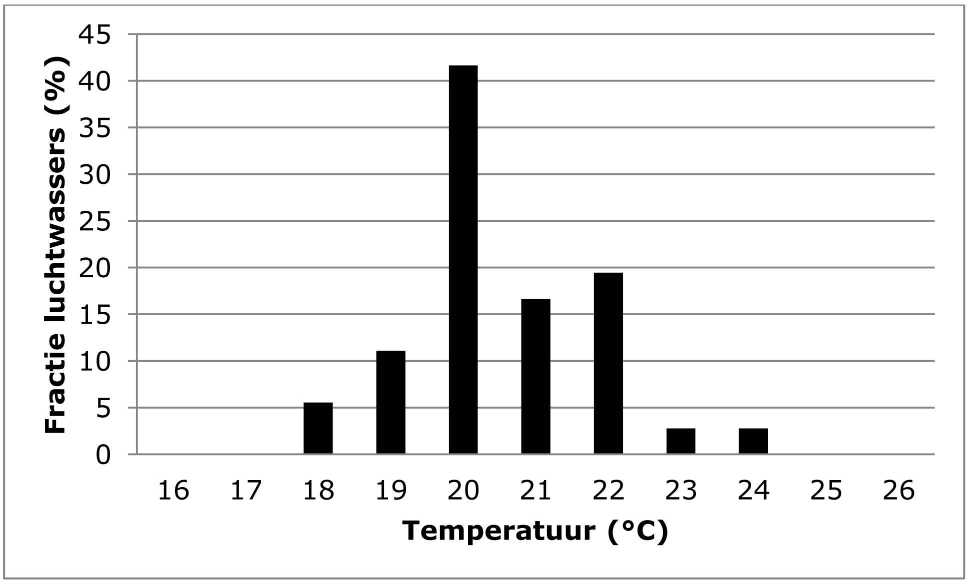
Figuur 4 *Procentuele verdeling van de luchtwassers over pH-klassen van het waswater (totaal: 36 luchtwassers).*
Van elke wasser zijn 3 monsters genomen op verschillende plaatsen; voor elke luchtwasser is het monster met de meest gunstige pH voor legionellagroei (het dichts bij pH 7,0) in deze figuur opgenomen. De pH-klassen zijn de afgeronde waarden van de metingen; het aantal luchtwassers binnen een pH-klasse is weergegeven als percentage van het totaal aantal luchtwassers.

Bij 18 luchtwassers (50%) was de zuurgraad neutraal (6,5 < pH ≤ 7,5), een range die beschouwd wordt als normaal bij een goedwerkende biologische luchtwasser. Bij 6 luchtwassers (14%) waren de watermonsters licht zuur (4,5 < pH ≤ 6,5) en van 9 wassers (25%) was de zuurgraad licht basisch (7,5 < pH ≤ 8,5). Van 3 biologische luchtwassers (8%) was de pH 'sterk zuur' (pH ≤ 4,5) bij alle watermonsters. In totaal 32 van de 36 luchtwassers (89%) hadden een pH tussen de 5,5 en 9,2, een range waarin groei van legionella mogelijk zou kunnen zijn. Bij één van de wassers werd gebruikgemaakt van een automatische pH-regeling om de zuurgraad neutraal te houden door, zo nodig, het toevoegen van een dosis zwavelzuur of natronloog. Bij de overige wassers werd de pH-waarde niet actief gereguleerd maar is een verandering in de waarde mogelijk door het spuien van het waswater en het toevoegen van vers water. De door ons gemeten pH waarden kwamen vrij goed

overeen met de waarden zoals die werden weergegeven op het display/de procescomputer van de luchtwassers zelf (afwijking < 1 pH eenheid).
In Bijlage 2 is een overzicht opgenomen met de pH van alle individuele waswatermonsters. Bij normale procesvoering wordt conform de BWL leaflets van de betreffende luchtwassers (IenM, 2014) en het Informatiedocument Luchtwassers (VROM, 2013) aangenomen dat de pH zich tussen 6,5 en 7,5 bevindt.

3.1.2 Temperatuur waswater en omgeving

Waswatertemperatuur
De hoogst gemeten watertemperatuur was 23,5°C en betrof een waswatermonster van een recirculatieleiding. De laagst gemeten temperatuur was 16,7°C en betrof een watermonster dat bij de sproeiers was genomen. Het resultaat van de temperatuurmetingen van de luchtwassers is weergegeven in Figuur 5 in de vorm van een histogram. De temperatuur-klassen zijn de afgeronde waarden van de metingen, dus bijv. temperatuur-klasse 20°C bevat de waarden van 19,5 tot 20,5°C. Van elke luchtwasser zijn 3 monsters genomen. Het monster met de hoogste temperatuur - de meest gunstige temperatuur voor legionellagroei - wordt in Figuur 5 opgenomen als waswatertemperatuur voor de luchtwasser. Het aantal luchtwassers dat binnen een bepaalde temperatuur-klasse valt is weergegeven als percentage ten opzichte van het totale aantal luchtwassers.

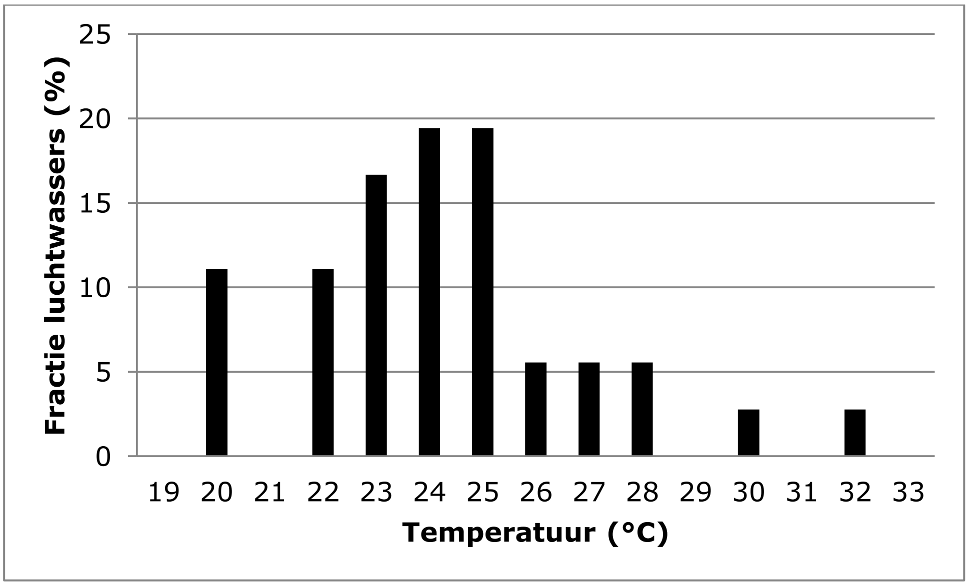


Figuur 5 *Procentuele verdeling van de luchtwassers over temperatuur-klassen van het waswater (totaal: 36 luchtwassers).*
Van elke wasser zijn 3 monsters genomen op verschillende plaatsen; voor elke luchtwasser is het monster met de hoogste temperatuur in deze figuur opgenomen. De temperatuur-klassen zijn de afgeronde waarden van de metingen; het aantal luchtwassers binnen een temperatuur-klasse is weergegeven als percentage van het totaal aantal luchtwassers.

Bij 9 locaties was de hoogst gemeten temperatuur ≥ 21,5°C (25% van de luchtwassers), een temperatuur waarbij groei van legionella mogelijk zou zijn. Bij 21 locaties was de temperatuur tussen 19,5 en 21,5°C (58% van de luchtwassers). De temperatuur tussen de 3 genomen watermonsters per locatie verschilde bij 34 van de 36 luchtwassers niet meer dan 1°C. Bij de 2 luchtwassystemen waar wel een verschil van > 1°C is gemeten is bij de ene wasser een monster van de stofwasstap genomen met een mogelijk gescheiden watersysteem en bij de andere locatie werd het waswater gedeeld door meerdere wassers. De monsters bij deze laatste locatie zijn bij 2 wassers genomen die ongeveer 30 meter uit elkaar liggen waardoor temperatuurverschillen door omgevingsfactoren mogelijk zijn. In Bijlage 3 worden de gemeten temperaturen van alle waswatermonsters weergegeven.

Omgevingstemperatuur

De hoogst gemeten omgevingstemperatuur in en rondom de luchtwassers (ca. 3 metingen per luchtwasser) zijn weergegeven in Figuur 6. De hoogst gemeten omgevingstemperatuur was 31,5°C en betrof de temperatuur van de lucht die de wasser inkomt ('inkomende lucht'), dus de stallucht. Bij de recirculatiepomp was de hoogst gemeten temperatuur 27°C en de hoogst gemeten temperatuur in de (werk)ruimte waar zich (een deel van) van de wasser bevindt 30°C. Het resultaat van de metingen van de omgevingstemperatuur wordt weergegeven in Figuur 6 in de vorm van een histogram. De temperatuurklassen zijn de afgeronde waarden van de metingen, dus bijv. temperatuur-klasse 20°C bevat de waarden van 19,5 tot 20,5°C. Bij elke luchtwasser is de omgevingstemperatuur op een aantal verschillende plaatsen gemeten; de meting met de hoogste temperatuur - de meest gunstige temperatuur voor legionellagroei - wordt in Figuur 6 opgenomen als omgevingstemperatuur voor de luchtwasser. Het aantal metingen dat binnen een bepaalde temperatuurklasse valt is weergegeven als percentage ten opzichte van het totale aantal metingen.



Figuur 6 *Procentuele verdeling van de luchtwassers over temperatuur-klassen van de omgevingstemperatuur (totaal: 36 luchtwassers).*
Bij elke wasser is de temperatuur op 3 verschillende plaatsen gemeten; voor elke luchtwasser de hoogst gemeten temperatuur in deze figuur opgenomen. De temperatuur-klassen zijn de afgeronde waarden van de metingen; het aantal luchtwassers binnen een temperatuur-klasse is weergegeven als percentage van het totaal aantal luchtwassers.

Bij 20 luchtwassers (56%) wordt de hoogste omgevingstemperatuur gemeten bij de inkomende te reinigen lucht waarvan 9 luchtwasser (25%) een luchttemperatuur hebben van ≥ 25°C. De recirculatiepomp is bij 6 luchtwassers (17%) de hoogste omgevingstemperatuur waarvan 2 wassers (6%) ≥ 25°C. De ruimtetemperatuur is bij 3 luchtwassers (8%) de hoogste omgevingstemperatuur en bij 1 locatie werd een ruimtetemperatuur van ≥ 25°C gemeten. De luchtwasser met de hoogste ruimtetemperatuur was gesitueerd in het midden van het stallencomplex. Bij de overige 7 luchtwassers (19%) werd dezelfde temperatuur gemeten bij de inkomende lucht, de recirculatiepomp en/ of de ruimtemperatuur. De omgevingstemperatuur op deze locaties was niet hoger dan 24°C. In Bijlage 3 worden alle gemeten temperaturen van de omgevingslucht weergegeven.

3.1.3 Toegankelijkheid en staat van onderhoud

Bij veel luchtwassers was het niet mogelijk om het gehele luchtwassysteem te inspecteren. Sproeiers van de stofwasstap konden niet altijd worden bekeken en soms was het kunststof pakkingsmateriaal niet zichtbaar of alleen een deel van de boven of onderkant was zichtbaar. Sommige installaties waren slecht bereikbaar. Op één locatie kon de wasser pas bereikt worden nadat een deel van de wand met isolatiemateriaal van een stal was verwijderd. Bij andere locaties waren hoogwerkers of ladders nodig of moesten veel bouten worden losgedraaid voordat de wasser van dichtbij kon worden bekeken.

Opvallend was dat op locaties waar het onderhoud achterstallig was of waar de veehouder zelden de wasser inspecteerde, het vooral wassers betrof waarbij de bereikbaarheid slecht was of waarvoor veel handelingen nodig waren om de wasser te bekijken. Zo is bijvoorbeeld in Figuur 7 te zien dat de kast waar de pomp, de kleppen, meters en het controlepaneel van de wasser zich bevinden alleen te bereiken is met een losse schuifladder; er is geen reling aanwezig of een bordes vloer waarop veilig kan worden gestaan. De persoon op de foto staat op een losse plank die op het metalen frame is gelegd waarop de wasser is gemonteerd.



Figuur 7 *Luchtwasser alleen te bereiken met schuifladder.*

Bij 4 locaties werkten niet alle sproeiers wat duidt op verstopping en achterstallig onderhoud. Door deze verstoppingen kan er sprake zijn van een mindere doorstroming van het waswater door de leidingen, het waspakket en het bassin. Bij een paar wassers waren bladeren zichtbaar op het waspakket (zie bijvoorbeeld Figuur 8) en bij 4 wassers is biofilm op de wanden van de luchtuitlaat of op de druppelvangers waargenomen. Door de constructie van de wassers was het niet altijd mogelijk bij de druppelvanger of luchtuitlaat te komen. Het is niet uitgesloten dat biofilm op meer plekken bij de uitlaat aanwezig is. Op locaties waar het waspakket van onderen te bekijken was, was meestal biofilm zichtbaar; ook op wanden en de dragende constructie van de wassers werd biofilm waargenomen (zie Figuur 9). Bij 7 locaties werd veel schuim waargenomen waarop deels ‘bruinige’ biofilm en/of stof zichtbaar was (zie Figuur 10).



Figuur 8 *Bladeren zichtbaar op het waspakket; de voorgeschreven druppelvanger is niet aanwezig.*



Figuur 9 *Biofilm is zichtbaar op constructie en waspakket.*



Figuur 10 *Bij een aantal luchtwassers is aan de oppervlakte van het bassin schuim zichtbaar met daarop deels bruinig materiaal.*

Behalve de recirculatiepomp is geen apparaat aangetroffen dat de wasser of de recirculatieleidingen (lokaal) zou kunnen opwarmen. Op enkele locaties werd een dompelpomp gebruikt, welke zich in het waterbassin bevond, in plaats van een recirculatiepomp die in de (werk)ruimte was geplaatst; in die gevallen konden geen temperatuurmetingen bij de pomp worden verricht.

Van de bezochte biologische luchtwassers waren 17 wassers geplaatst in de nok van de stal of midden in het stallencomplex, waardoor temperatuur van de wasser mogelijk hoger kan zijn dan bij de 17 wassers die aan het einde van de stal waren ingebouwd (meteen achter de gevel) of de 2 wassers die

als een container tegen de buitengevel waren geplaatst. Bij deze laatste twee categorieën zal de temperatuur van de buitenlucht mogelijk meer invloed hebben.

Van de 36 bezochte locaties met biologische luchtwassers werd bij 4 locaties leidingwater van het drinkwaterbedrijf gebruikt om het water van de wasser aan te vullen. Alle overige locaties gebruiken water van eigen winning waarbij 1 locatie deels water hergebruikt uit mest via een omgekeerde osmose-installatie.

3.1.4 Stofwasstap

Van de 36 bezochte biologische luchtwassers werd bij 30 luchtwassers (83%) eerst een stofwasstap uitgevoerd om verstopping van de luchtwasser door (fijn)stof zoveel mogelijk te voorkomen. Bij veel zogenaamde combi-wassers is de stofwasstap de eerste stap, gevolgd door de daadwerkelijke biowasstap. Op de bezochte locaties zijn 3 verschillende stofwasstappen waargenomen:

Type A (zie Figuur 11): De stallucht komt zijwaarts of van boven in een ruimte waar bovenin sproeiers aanwezig zijn die als een soort douche de inkomende lucht wassen en een deel van het stof uit de lucht verwijderen ('mee-stroom' of 'dwars-stroom' principe, afhankelijk van het ontwerp). In deze ruimte is geen waspakket aanwezig.
Vervolgens gaat de lucht richting de biowasstap (rechtsonder op de foto) waar de lucht van onder naar boven door het waspakket stroomt; boven het waspakket zijn sproeiers gemonteerd (niet op de foto zichtbaar); het 'tegen-stroom' principe.

Type B (zie Figuur 12): Dit type lijkt op type A maar de sproeiers zijn niet bovenin de ruimte gemonteerd maar aan de onderzijde, juist voordat de lucht door het biowaspakket wordt geleid ('mee-stroom' principe).

Type C: De stofwasstap bestaat uit een verticale wand van een kunststof honingraatstructuur waar de lucht horizontaal doorheen stroomt; de sproeiers zijn voor het waspakket geplaatst en sproeien in de richting van de luchtstroom ('mee-stroom'-principe) . Daarna is er een tussenruimte van ca. 75 cm en gaat de lucht door een tweede waspakket (eveneens een rechtopstaande wand), de biologische luchtwasser zelf. De sproeiers van de biowasstap bevinden zich boven het biowaspakket ('dwars-stroom' principe).



Figuur 11 *Stofwasstap type A. De lucht verlaat de stofwasstap onderaan aan de rechterzijde op de foto, waar zich het waterbassin en het waspakket van de biowasstap bevindt.*



Figuur 12 *Stofwasstap type B. De sproeiers zijn zichtbaar die de lucht bevochtigen juist voordat deze door het biowaspakket wordt geleid.*

3.1.5 Verspreiding aerosolen naar de omgeving

Uit de literatuur is bekend dat legionellabacteriën in de lucht kunnen worden gebracht door vorming van een fijne waternevel, ook wel aerosolen genoemd (Bollin et al., 1985). Deze aerosolen hebben een grootte van ongeveer 1-8 µm. Deze aerosolen kunnen ontstaan door krachtig sproeien van het water, bijvoorbeeld door een douche of een fontein of door het gebruik van sproeiers ('spray nozzles') zoals die in de meeste luchtwassers en koeltorens worden gebruikt.
Bij 2 wassers werd voor de verdeling van het water over het waspakket geen gebruik gemaakt van sproeiers, maar van waterverdeelplaten. Hierbij wordt het waswater druppelsgewijs verspreid over het waspakket en niet met kracht gesproeid. Daarom is bij deze wassers de kans klein op vorming van aerosolen van bovengenoemde afmetingen. De overige 34 wassers gebruiken sproeiers om het water te verdelen over het waspakket, waardoor bij deze wassers wel relevante aerosolvorming (dat wil zeggen vorming van aerosolen met een grootte van ca. 1-8 µm) waarschijnlijk is.
Bij 5 van de 36 bezochte luchtwassers was geen druppelvanger aanwezig (zie bijvoorbeeld Figuur 8), bij de overige luchtwassers wel. Een druppelvanger is bedoeld en ontworpen om druppels met veel massa ('grote druppels') uit de lucht af te scheiden. Bij meerdere luchtwassers is biofilm aangetroffen op de druppelvangers (Figuur 13). Ook wanneer een druppelvanger wordt gebruikt zal (een deel van de) relevante aerosolen waarschijnlijk nog steeds in de omgeving worden gebracht.



Figuur 13 *Bovenaanzicht van de luchtuitlaat van de biologische luchtwasser; het zwarte kunstofpakket is de druppelvanger. Eén van de druppelvangermodules is verwijderd en ligt op zijn kant op de andere druppelvangermodules. Op de verwijderde druppelvangermodule is geel-bruine biofilm zichtbaar (aan de kant waar de sproeiers zich bevinden).*

Bij 2 van de 36 bezochte biologische luchtwassers werd de lucht door de wassers getrokken (onderdruk): de ventilatoren waren aan het eind van het luchtwassysteem geplaatst. Bij de overige wassers werd gebruikgemaakt van een drukkamer, zaten de ventilatoren voor de wasser en werd de lucht door de luchtwasser geduwd (overdruk).
Van de bezochte locaties waren 9 locaties binnen een straal van 600 meter van een woonomgeving (dorps- of stadsgrens). Drie locaties bevonden zich tegen of in de woonomgeving. Zestien locaties waren < 600 m van een N- of A-autoweg gelegen, waarvan 7 vlak naast de autoweg (< 200 m).

3.1.6 Overige metingen

Naast de pH en de temperatuur werd de EC van de waswatermonsters gemeten; ook deze waarden zijn opgenomen in Bijlage 2. Bij normale procesvoering wordt conform de BWL leaflets van de betreffende luchtwassers (IenM, 2014) en het Informatiedocument Luchtwassers (VROM, 2013) aangenomen dat de EC maximaal 18 mS/cm bedraagt. Wanneer de geleidbaarheid hoger is, wordt het nitrificatieproces mogelijk geremd waardoor het rendement van de ammoniakverwijdering omlaag kan gaan; een lage geleidbaarheid duidt er op dat er veel vers water wordt toegevoerd en/of weinig ammoniak wordt afgebroken.

Uit Bijlage 2 blijkt dat de gemiddelde EC bij 13 wassers (36%) hoger was dan bovengenoemde maximumwaarde. De hoogste gemiddelde geleidbaarheid was 49 mS/cm en de laagst gemeten gemiddelde geleidbaarheid was 2,5 mS/cm. De door ons gemeten pH-waarden kwamen vrij goed overeen met de waarden zoals die werden weergegeven op het display/de procescomputer van de luchtwassers zelf (afwijking ≤ 20%). Op één wasserlocatie is de werking getest van de EC meter die zich op de luchtwasser bevond, omdat de afwijking in dit geval vrij groot was en de veehouder aangaf dat de meter kortgeleden was gecontroleerd door de leverancier. Het bleek dat de waarde die op het display werd weergegeven werd beïnvloed door het in werking zijn van de recirculatiepomp. Dit duidt er op dat er geen sprake is van de noodzakelijke galvanische scheiding tussen de EC-meter en de pomp, waardoor onbetrouwbare EC-waarden worden gemeten. Dit is in het verleden een aantal maal onder de aandacht gebracht van luchtwasserleveranciers; blijkbaar is dit niet op alle locaties verholpen.

3.2 Resultaten legionella-analyse waswatermonsters

3.2.1 Analyse op legionella middels kweek op GVPC-platen

De meeste monsters waren met de kweek op GVPC-platen niet te beoordelen op legionella, doordat de platen overgroeid waren met andere bacteriën. Uitzondering betroffen de monsters van luchtwasser 8, 9 en 16. Bij deze monsters werden geen kolonies op plaat verkregen. Dit waren monsters met een lage pH (pH 2,7-pH 4,0). De monsters van LW 23 en LW 29 hadden losse, telbare kolonies op plaat. De pH van deze monsters was pH 4,7-pH 6,0. Deze kolonies bleken echter geen legionella te zijn.

3.2.2 Analyse op legionella middels amoebe-kweek

Van de 36 luchtwassers zijn van 33 luchtwassers alle 3 de monsters geanalyseerd middels de amoebe-kweek. Van 1 luchtwasser (LW29) is slechts 1 monster geanalyseerd en van 2 luchtwassers (LW16 en LW23) zijn geen monsters geanalyseerd, omdat de pH van deze monsters bij nameting bij het RIVM een pH <5 hadden. De amoebe-kweek leverde losse kolonies op. Verdachte kolonies zijn doorgestreken op BCYE-platen met en zonder cysteïne om te bevestigen of het legionella betrof. Geen van de doorgestreken kolonies bleek legionella te zijn.

4 Discussie en conclusie

<u>Geen legionella gevonden</u>

Voor de 34 luchtwassers waarbij het waswater is geanalyseerd op de aanwezigheid *van Legionella* spp*.* geldt dat deze bacterie in geen enkel watermonster is aangetroffen; voor de 2 overige luchtwassers was de pH dusdanig laag dat het niet zinvol werd geacht om de monsters op legionella te onderzoeken omdat bij een dergelijke pH geen legionella kan groeien. Bij 30 luchtwassers was de pH van het waswater > 5,5 en zou op basis van de pH legionellagroei mogelijk zijn. De bezoeken zijn uitgevoerd aan het eind van de zomer omdat het risico op de aanwezigheid van legionella dan het hoogst wordt ingeschat.

Op basis van de steekproefgrootte (n=36) en de gebruikte methode kan met een betrouwbaarheid van 98% gesteld worden dat de kans op het aantreffen van een biologische luchtwasser met een detecteerbare hoeveelheid legionella minder dan 10% is in de meest kritische periode van het jaar (eind van de zomer). Aangenomen wordt dat het risico in de winter nog lager zal zijn.

Bij 8 van de 36 luchtwassers (dus in 22% van de gevallen) is een pH gemeten waarin groei van legionella mogelijk zou zijn (pH 5,5-9,2) én had het waswater een temperatuur van $\geq$ 22°C, dus de temperatuur waarbij legionella kan groeien. Desalniettemin zijn bij deze 8 wassers geen *Legionella* spp. aangetroffen. Bij de overige luchtwassers (28 van de 36 luchtwassers) lijkt legionellagroei op basis van de gemeten pH en temperatuur onwaarschijnlijk.
Overigens dient opgemerkt te worden dat in drinkwaterinstallaties en bij koeltorens, in sommige gevallen ook legionella is gevonden bij temperaturen van 22°C of lager (Arvand et al., 2011; KWR, 2010). Enerzijds zou dit er op kunnen wijzen dat sommige legionellasoorten ook bij lage temperatuur kunnen groeien; anderzijds zou dit veroorzaakt kunnen zijn door (plaatselijke) opwarming boven de 22°C in een ander deel van de waterinstallatie. Bij de onderzochte luchtwassers zijn geen gevallen van plaatselijke opwarming gevonden.

Een andere oorzaak dat geen legionella werd aangetroffen in het waswater van de onderzochte biologische luchtwassers, kan zijn dat er sprake is van één of meerdere remmende factoren. Hierbij kan gedacht worden aan het gebruik van water van eigen winning (grondwater) waardoor er sprake is van relatief korte leidingen en weinig aftakkingen. Daarnaast zou remming kunnen optreden door de aanwezigheid van andere organismen of (ammonium)zouten in het waswater. Dit laatste aspect zou nader kunnen worden onderzocht door waswatermonsters te incuberen met een legionella-stam en vast te stellen of deze overleeft bij deze condities, wat tijdens deze studie niet is onderzocht. Wel is nagegaan of aanwezigheid van het waswater een remmende invloed heeft op de detectie van legionella via de amoebekweek procedure, wat niet het geval bleek te zijn. Ook is het mogelijk dat legionella wel voorkomt in het waswater maar in concentraties die lager zijn dan de detectielimiet van de amoebekweekmethode (3.300 kve/L). Bovendien wordt de groei van *L. pneumophila*, de belangrijkste veroorzaker van legionella-longontstekingen, vooral boven een temperatuur van 25°C verwacht (Ohno et al., 2008). De gemeten waswatertemperatuur van het suppletie- en/of waswater was bij geen enkele onderzochte locatie 25°C of hoger. Hiermee verschillen de luchtwassers van natte comfort koeltorens waar het opgewarmde koelwater veelal een temperatuur heeft tussen de 25 en 45°C (Oesterholt, 2013). Het is overigens niet uitgesloten dat luchtwassers die in de industrie worden gebruikt, wel een waswatertemperatuur hebben ≥25°C en een gunstige pH, waardoor legionellagroei in deze gevallen wel mogelijk is.

Tijdens het onderzoek bleek dat bij 5 van de 36 luchtwassers (dus in 14% van de gevallen) geen druppelvanger aanwezig was, hetgeen toegestaan is. Bij een biologische luchtwassers wordt een druppelvanger namelijk niet standaard voorgeschreven. Volgens het 'Technisch informatiedocument luchtwassystemen voor de veehouderij' (VROM, 2013) is de reden daarvoor dat met de gereinigde lucht uitgeblazen druppels waswater niet of nauwelijks schadelijk voor de omgeving zijn (bij chemische luchtwassers wordt een druppelvanger wel standaard voorgeschreven). Aangezien een druppelvanger de emissie van aerosolen beperkt, zal toepassing van een druppelvanger bij biologische

wassers het risico op verspreiding van in het waswater aanwezige micro-organismen en endotoxinen beperken.

Zuurgraad biologische luchtwassers

Bij 9 van de 36 biologische luchtwassers zijn pH-waarden gevonden die lager zijn dan 6,5; 6,5 is de waarde die als minimum gehanteerd wordt voor een normaal functionerende luchtwasser. Bij 3 luchtwassers werden zelfs pH-waarden ≤4 gevonden, een waarde die normaal is voor chemische luchtwassers waarbij zwavelzuur wordt toegevoegd om ammoniak af te vangen.
Wanneer de pH in een biologische luchtwasser veel lager is dan 6,5 en de stallucht daadwerkelijk door de luchtwasser gaat, mag aangenomen worden dat de ammoniakverwijdering uit de lucht zeer goed verloopt. Bij een lage pH wordt de ammoniak, een base, namelijk gebonden door het in het waswater aanwezige zuur. In een normaal functionerende biologische luchtwasser wordt ammoniak omgezet in de opgeloste zouten $NH_4^+NO_3^-$ en/of $NH_4^+NO_2^-$ (nitrificatie), wat vervolgens met het spuiwater wordt afgevoerd. Als gevolg hiervan stelt zich een evenwichts-pH in het bereik tussen ca. 6,5 en 7,5. Wanneer desalniettemin veel lagere pH-waarden worden gevonden is dit een aanwijzing dat ammoniak niet volledig wordt omgezet naar $NH_4^+NO_3^-$ en/of $NH_4^+NO_2^-$ en dat de nitrificatie geremd wordt. Uit de literatuur is namelijk bekend dat nitrificatie in het algemeen geremd wordt bij pH-waarden lager dan 6,5 (Painter, 1986; Shammas, 1986; Burton en Prosser, 2001), ook al is in sommige onderzoeken aangetoond dat ook bij lage pH nitrificatie kan voorkomen (De Boer et al., 1991; Tarre en Green, 2004; Tarre et al., 2004). Wanneer de nitrificatie door lage pH geremd wordt, kan dit leiden tot een verhoogde productie van lachgas (N_2O) (Mørkved et al., 2007) en stikstofmonoxide (NO) (Groeneweg et al., 1996). Lachgas is een sterk broeikasgas en stikstofmonoxide kan leiden tot verzuring en eutrofiëring van de bodem. Het gevaar bestaat dat bij de biologische luchtwassers met lage pH een (groot) deel van de stikstof niet wordt afgevoerd met het spuiwater, maar geëmitteerd wordt naar de omgeving in de vorm van N_2O en NO.
Verder viel op dat het waswater van de 'zure' biologische luchtwassers in het algemeen helderder was dan het waswater van biologische luchtwassers met een normale pH (6,5 - 7,5), wat waarschijnlijk betekent dat er minder biomassa aanwezig is. Dit wordt bevestigd door de bevinding dat de GVPC-platen bij de drie luchtwassers met de allerlaagste pH niet overgroeid waren met andere bacteriën, terwijl dit bij de andere monsters wel het geval was (zie paragraaf 3.2.1). Mogelijk is de groeisnelheid van bacteriën in de 'zure' biologische luchtwassers lager dan biologische wassers met een neutrale pH of hebben ze andere eigenschappen (hechten zich beter aan het pakkingsmateriaal of bezinken beter in het waswaterbassin).

Toegankelijkheid en onderhoud van luchtwassers

Tijdens de bezoeken bij de veehouderijen bleek een groot verschil in toegankelijkheid van de luchtwassers en de staat van onderhoud. Zoals beschreven in paragraaf 3.1.3 was een aantal installaties slecht toegankelijk.
Zo was bij één luchtwassers het bassin en onderzijde van het waspakket alleen toegankelijk nadat een aantal golfplaten van de wand van de stal waren losgeschroefd en wandisolatie was verwijderd. Na verwijdering van de wand bleek er lekkage te zijn in het luchtwassersysteem en was de isolatie van de wand van de stal geheel doorweekt. Bij een andere wasser bleek tijdens het bezoek dat de vlotter voor toevoer van vers water defect was waardoor continu vers grondwater werd toegevoegd aan de wasser. Hierdoor was de wasser overstroomd en liep het vers toegevoerde water bijna rechtstreeks de mestput in. Dit was in overeenstemming met de zeer lage elektrische geleidbaarheid (2,5 mS/cm) die zichtbaar was op het display in de centrale gang; de data van deze wasser (inclusief watergebruik en geleidbaarheid) werd elke dag automatisch doorgestuurd naar de leverancier van de wasser ("elektronische monitoring"). Maar zowel de veehouder als de leverancier hadden dit niet opgemerkt zodat geen actie was ondernomen. Verder waren er ook wassers op 5 meter hoogte waar een uitschuifladder tegenaan moet worden gezet om er bij te komen of er werd gebruikgemaakt van een hoogwerker. Meerdere malen moesten bouten worden verwijderd om in de wasser te kunnen kijken. Verschillende veehouders gaven aan alleen af en toe op de display te kijken om te controleren of de luchtwasser naar behoren werkt, zonder op regelmatige basis de wasser nader te inspecteren. Omdat wij bij onze bezoeken ook de sproeiers bekeken, ontdekten wij hierdoor soms verstoppingen van de sproeiers waar de veehouder niet van op de hoogte was. Verder bleek uit metingen van de EC van de

watermonsters dat deze regelmatig hoger was dan de maximaal toegestane waarde. Ook bleek in een aantal gevallen dat de werkelijke EC-waarde afweek van de waarde die wordt weergegeven op het display van de wasser, wat mede wordt veroorzaakt door fouten in de elektrische installatie (het ontbreken van een galvanische scheiding tussen de recirculatiepomp en de EC-meter).
Uit de ervaringen blijkt dat de slechte toegankelijkheid van een aantal luchtwassers er (mede) toe leidt dat er onvoldoende controle- en onderhoudswerkzaamheden worden uitgevoerd door de veehouder. Wij zijn van mening dat meer aandacht nodig is voor het belang van een goede bereikbaarheid, meer aandacht voor hoog-kwalitatief onderhoud en visuele controle van de biologische luchtwassers die gebruikt worden in de veehouderij.

Conclusie

Samenvattend kan gezegd worden dat tijdens de steekproef naar de aanwezigheid van legionella, die is uitgevoerd in de meest risicovolle periode (eind van de zomer), geen legionella is aangetroffen. Daarnaast was de gemeten waswatertemperatuur lager dan het niveau waarbij groei wordt verwacht van de legionellasoort die de meeste ziektegevallen veroorzaakt. Hieruit wordt geconcludeerd dat het niet waarschijnlijk is dat biologische luchtwassers die binnen de veehouderij worden gebruikt legionella verspreiden naar de woonomgeving. Het risico op verspreiding van in het waswater aanwezige micro-organismen of endotoxinen kan verder teruggebracht worden door ook bij biologische luchtwassers standaard druppelvangers toe te passen.
Verder bleek tijdens het onderzoek dat de pH van het waswater bij sommige biologische wassers erg laag was (risico op emissie van N_2O en NO) en dat de toegankelijkheid en de status van het onderhoud soms te wensen overlaat.

5 Aanbevelingen

In de eerder uitgevoerde studie (Bartels et al., 2013) werd aanbevolen om na te gaan of in luchtwassers legionellagroei kan plaatsvinden, zowel binnen de veehouderij als binnen de industrie. In dit rapport is bij biologische luchtwassers binnen de veehouderij geen legionella aangetroffen en werd geen (plaatselijke) opwarming van het waswater gesignaleerd; het risico op de aanwezigheid en verspreiding van legionella door biologische luchtwassers bij veehouderijen is dan ook gering. Desondanks wordt aanbevolen er op toe te zien dat opwarming van het waswater wordt voorkomen.

Industriële luchtwassers zijn niet in dit onderzoek meegenomen. De procesomstandigheden, constructie en samenstelling van het waswater bij industriële luchtwassers kunnen dermate anders zijn, dat de conclusies van dit onderzoek niet kunnen worden doorgetrokken naar industriële luchtwassers. Daarom wordt aanbevolen om ook bij industriële stofwassers en biologische luchtwassers een vergelijkbaar onderzoek uit te voeren.

Een mogelijke reden waarom geen legionella is aangetroffen in dit onderzoek zou kunnen zijn dat legionellagroei geremd wordt door de aanwezigheid van andere organismen of (ammonium)zouten in het waswater. Aanbevolen wordt om dit aspect nader te onderzoeken door waswatermonsters te incuberen met een legionella-stam en vast te stellen of deze overleeft bij deze condities.

Verder bleek dat bij 14% van de bezochte locaties een druppelvanger ontbrak. Om het risico op verspreiding van in het waswater aanwezige micro-organismen of endotoxinen te beperken wordt aanbevolen om ook bij biologische luchtwassers standaard druppelvangers toe te passen en de regelgeving op dit gebied aan te passen.

In dit rapport is beschreven dat bij een groot aantal biologische luchtwassers binnen de veehouderij een lage pH kan verwacht worden (< 6,5). Dit is ook door een aantal luchtwasserfabrikanten gesignaleerd. Een lage pH kan leiden tot een hogere productie en emissie van lachgas (N_2O) en stikstofmonoxide (NO); beide gassen zijn schadelijk voor het milieu. Daarom wordt aanbevolen om een aantal van deze luchtwassers nader te onderzoeken en na te gaan hoe groot de N_2O en NO emissies zijn die hiermee gepaard gaan. Op basis daarvan kan nagegaan worden of er acties genomen moeten met betrekking tot onderhoud en procescontrole van de luchtwasser, maar ook ten aanzien van wet- en regelgeving en controle en handhaving hiervan (bijv. met behulp van gegevens uit de elektronische monitoring).

6 Literatuur

Arvand, M.; K. Jungkind; A. Hack (2011). Contamination of the cold water distribution system of health care facilities by *Legionella pneumophila*: do we know the true dimension? Euro Surveill. 21(16).

Bartels, A.A.; J.A.C. Schalk; R.W. Melse (2013). Kunnen natte lucht- en gaswassers aerosolen met legionellabacteriën verspreiden naar de omgeving? RIVM rapport 150017001/2013.

Bollin, G.E.; J.F. Plouffe; M.F. Para; B. Hackman (1985). Aerosols containing *Legionella pneumophila* generated by shower heads and hot-water faucets. Applied Environmental Microbiology 50(5):1128-1131.

Brandsema, P.S.; S.M. Euser; I. Karagiannis; J.W. Den Boer; W. Van Der Hoek (2014). Summer increase of Legionnaires' disease 2010 in The Netherlands associated with weather conditions and implications for source finding. Epidemiol Infect. 142(11): 2360-2371.

Burton, S. A. Q.; I. Prosser (2001). Autotrophic ammonia oxidation at low pH through urea hydrolysis. Appl. Environ. Microbiol. 67:2952-2957.

De Boer, W.; P.J.A. Klein Gunnewiek; M. Veenhuis; E. Bock; H.J. Laanbroek (1991). Appl Environ Microbiol. 57(12): 3600-3604.

Ehlert, P.A.I.; W.J. Chardon (2014). Veranderingen van de zwavelbalans van de Nederlandse bodem. Beantwoording van een helpdeskvraag. Rapport 2516. Alterra Wageningen UR, Wageningen.

EZ (2014). Brief van staatssecretaris Dijksma (EZ) aan de Tweede Kamer over een reactie op een onderzoeksrapport van het RIVM getiteld "Kunnen luchtwassers legionella verspreiden naar de omgeving?".

Groeneweg, J.; I. Leuther; T. Muckenheim (1996). Nitric Oxide (NO) release in activated sludge plants with nitrification and denitrification. In: Progress in Nitrogen Cycling Studies. Developments in Plant and Soil Sciences. Eds: O. van Cleemput, G. Hofman, A. Vermoesen. Volume 68, 1996, 553-557.

IenM (2014). Overzicht van alle stalbeschrijvingen (leaflets) en de emissiefactoren per diercategorie. Web: http://www.infomil.nl/onderwerpen/landbouw-tuinbouw/ammoniak/rav/stalbeschrijvingen/

Karagiannis, I.; P. Brandsema; M. Van Der Sande (2009). Warm, wet weather associated with increased Legionnaires' disease incidence in The Netherlands. Epidemiol Infect. 137(2):181-187

Melse, R.W.; N.W.M. Ogink (2005). Air scrubbing techniques for ammonia and odor reduction at livestock operations: Review of on-farm research in the Netherlands. T. ASAE. 48(6): 2303-2313.

KWR (2010). *Legionella pneumophila* in natte gebouwgebonden koeltorens. KWR rapport 09.077. KWR, Nieuwegein.

Melse, R.W.; J.P.M. Ploegaert; N.W.M. Ogink (2012). Biotrickling filter for the treatment of exhaust air from a pig rearing building: Ammonia removal performance and its fluctuations. Biosyst. Eng. Vol 113(3): 242-252.

Melse, R.W.; N.W.M. Ogink, W.H. Rulkens (2009). Air treatment techniques for abatement of emissions from intensive livestock production. Open Agriculture Journal 3: 6-12.

Mørkved, P.T.; P. Dörsch; L.R. Bakken (2007). The N2O product ratio of nitrification and its dependence on long-term changes in soil pH. Soil Biology and Biochemistry 39(8): 2048–2057.

NNI (2007). Nederlandse norm NEN 6265 (nl). Water-Detectie en telling van *Legionella* (Water - Detection and enumeration of *Legionella*). Nederlandse norm. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft.

Noordhuizen, J.P.T.M.; K. Frankena; C.M. van der Hoofd; E.A.M. Graat (1997). Application of quantitative methods in veterinary epidemiology, 1st Ed. Wageningen Pers, Wageningen.

Nygård, K.; Ø. Werner-Johansen; S. Rønsen; D.A. Caugant; Ø. Simonsen; A. Kanestrøm; E. Ask; J. Ringstad; R. Ødegård; T. Jensen; T. Krogh; E.A. Høiby; E. Ragnhildstveit; I.S. Aaberge; P. Aavitsland (2008). An outbreak of legionnaires disease caused by long-distance spread from an industrial air scrubber in Sarpsborg, Norway. Clin Infect Dis. 46(1): 61-69.

Oesterholt, F.I.H.M. (2013). Arbo informatiebladen nr. 32: Legionella. Risicobeheersing in proceswatersystemen waaronder en koelwater- en luchtbehandelingssystemen. 4e druk. SDU Uitgevers.

Ohno, A.; N. Kato; R. Sakamoto R; S. Kimura; K. Yamaguchi (2008). Temperature-dependent parasitic relationship between *Legionella pneumophila* and a free-living amoeba (*Acanthamoeba castelanii*). Applied Environmental Microbiology 74: 4585-4588.

Olsen, J.S.; T. Aarskaug; I. Thrane; C. Pourcel; E. Ask; G. Johansen; J.M. Blatny (2010). Alternative routes for dissemination of *Legionella pneumophila* causing three outbreaks in Norway. Environ Sci Technol. 44(22): 8712-8717.

Painter, H. A (1986). Nitrification in the treatment of sewage and wastewaters, pp 185-211. In :J. I. Prosser (ed.), Nitrification. IRL Press, Oxford, United Kingdom.

Schalk, J.A.C.; A.E. Docters van Leeuwen; W.J. Lodder; H. de Man; S.M. Euser; J.W. den Boer; A.M. de Roda Husman (2012). Isolation of *Legionella pneumophila* from pluvial floods by amoebal coculture. Appl Environ Microbiol. 78: 4519-4521.

Shammas, N.K. (1986). Interactions of Temperature, pH, and Biomass on the Nitrification Process. Journal (Water Pollution Control Federation) 58(1): 52-55.

Sonder, G.J.; Van den Hoek, J.A., Bovée, L.P.; Aanhane, F.E.; Worp, J.; Du Ry van Beest Holle, M.; Van Steenbergen, J.E.; Den Boer, J.W.; IJzerman, E.P.; Coutinho, R.A. (2008) Changes in prevention and outbreak management of Legionnaires' disease in the Netherlands between two large outbreaks in 1999 and 2006. Eurosurveillance 13(38).

Tarre, S.; M. Green (2004). High-Rate Nitrification at Low pH in Suspended- and Attached-Biomass Reactors. Appl Environ Microbiol. 70(11): 6481–6487.

Tarre, S.; M. Beliavski; N. Denekamp; A. Gieseke; D. de Beer; M. Green (2004). High nitrification rate at low pH in a fluidized bed reactor with chalk as the biofilm carrier. Water Sci Technol. 49(11-12):99-105.

Vries, de, J.W.; R.W. Melse (2015). Comparing environmental impacts of air scrubbers for ammonia abatement at animal houses. *In voorbereiding (journal paper)*.

VROM (2007). Regeling van de Minister van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer van 9 november 2007, nr. DJZ2007104180, houdende algemene regels voor inrichtingen (Regeling algemene regels voor inrichtingen milieubeheer). Web: http://wetten.overheid.nl/BWBR0022830/Hoofdstuk3/Afdeling32/325/Artikel316a/tekst_bevat_legionella/geldigheidsdatum_10-03-2015

VROM (2013). Technisch informatiedocument 'luchtwassystemen voor de veehouderij'. Eisen aan en richtlijnen voor de uitvoering en het gebruik van luchtwassystemen in dierenverblijven. Versie 2.0, oktober 2013.

Walser, S.M.; D.G. Gerstner; B. Brenner; C. Höller; B. Liebl; C.E. Herr (2014). Assessing the environmental health relevance of cooling towers-- a systematic review of legionellosis outbreaks. Int J Hyg Environ Health. 217(2-3): 145-154.

Bijlage 1: Invulformulier bedrijfsbezoek

Locatie-onderzoek biologische luchtwasser

(Pagina 1/2)

Algemeen	
Code luchtwasser	**LW#**
Datum bezoek en monstername	#-#-2014
Bezoekadres	
Naam veehouder (contactpersoon locatie)	
Telefoonnummer e-mail	
Type veehouderij Aantal dieren	
Contactpersoon voor doorgeven uitslagen en voor toezending eindrapport:	
Gegevens luchtwasser algemeen	
Type luchtwasser (BWL nummer) Fabrikant	
Dimensionering luchtwasser (max. aantal m3/uur)	
Jaar ingebruikname	
Lucht wordt door wasser geduwd (ventilator voor wasser) of getrokken (ventilator boven / achter pakket)	
Bedrijfsperiode: gehele jaar in werking of periodes buiten gebruik (aantal dagen/weken/maanden?)	
Periodiek onderhoud: - Hoe? - Wanneer/hoe vaak?	
Bevochtigen kunststof waspakket: - Waarmee? - Boven of zijwaarts op waspakket?	
Hoogst gemeten temperatuur waswater door eigenaar (indien gemeten)	
Is er een aftapkraantje aanwezig op de recirculatieleiding?	

<table>
<tr><th colspan="2">Gegevens luchtwasser algemeen (vervolg)</th></tr>
<tr><td>Is er een druppelvanger aanwezig?</td><td></td></tr>
<tr><td>Oorsprong waswater (drinkwaterbedrijf, eigen winning grondwater, eigen winning oppervlaktewater, regenwater of combinatie)</td><td></td></tr>
<tr><td>Lengte suppletieleiding t.o.v. watermeter</td><td></td></tr>
<tr><td>Vindt er denitrificatie plaats?</td><td></td></tr>
<tr><td>Spui: wordt water behandeld voor het spuien? Hoe/waar wordt het geloosd?</td><td></td></tr>
<tr><th colspan="2">Omgeving</th></tr>
<tr><td>Positie luchtwasser (zijgevel, nok stal) en # meter van de grond</td><td></td></tr>
<tr><td>Afstand tot openbare weg (autoweg / snelweg)</td><td></td></tr>
<tr><td>Afstand tot dorp /stad</td><td></td></tr>
<tr><th colspan="2">Risicofactoren</th></tr>
<tr><td>Temperatuur omgeving (ruimtetemp., installatie onderdelen wasser)</td><td>Ruimte/directe omgeving (°C): ...
Bij recirculatiepomp (°C): ...
Inkomende lucht (°C): ...</td></tr>
<tr><td>Is er biofilm zichtbaar?
Zo ja, waar?</td><td></td></tr>
<tr><td>Andere zichtbare risicofactoren? Zo ja, waar?
Opwarming recirculatieleiding, bassin, etc?

Verneveling; kalkaanslag of andere aanslag in omgeving van wasser

Vervuiling (kalk, algen, etc.)

Anders…</td><td></td></tr>
<tr><th colspan="2">Uitvoering monstername</th></tr>
<tr><td>Omschrijving plek van monstername:

Monster A: sproeiers (direct)
...
Monster B: bassin zijkant
...
Monster C: recirculatieleiding
...</td><td>Uitgevoerde metingen ter plaatse (voor elk monster A, B en C apart):

Temp. (°C): ...
pH: ...
Geleidbaarheid (EC) (mS/cm): ...</td></tr>
</table>

Bijlage 2: pH en EC waswater

Op locatie gemeten pH en EC waarden van de waswatermonsters

Nummer luchtwasser	pH (-)	pH (-)	pH (-)	EC (mS/cm)	EC (mS/cm)	EC (mS/cm)
	Monster A	Monster B	Monster C	monster A	monster B	Monster C
LW1	n.b.	n.b.	**7.5**	n.b.	n.b.	24.2
LW2	n.b.	n.b.	**7.2**	n.b.	n.b.	19.1
LW3	**7.9**	8.7	8.7	4.1	4.1	4.1
LW4	n.b.	n.b.	**7.5**	n.b.	n.b.	27
LW5	7.6	**7.1**	7.2	53	39	37
LW6	**6.4**	3.0	3.0	20.7	19.8	19.8
LW7	8.6	**8.5**	8.6	5.4	5.3	5.4
LW8	3.8	**4.0**	3.8	3.0	2.8	3.0
LW9	**3.3**	3.2	3.2	16.3	16.2	16.2
LW10	**7.7**	**7.7**	**7.7**	12.8	13.1	12.9
LW11	**7.0**	8.0	**7.0**	18.9	17	19
LW12	**7.1**	**7.1**	**7.1**	24.3	24.4	24.3
LW13	**6.8**	**6.8**	7.5	16.6	16.7	16.8
LW14	**5.6**	5.5	**5.6**	8.7	8.8	8.8
LW15	**8.0**	**8.0**	**8.0**	5.5	5.5	5.5
LW16	**2.8**	2.7	**2.8**	12.1	12.2	12.1
LW17	**7.0**	7.1	7.1	15.9	15.8	15.8
LW18	**7.1**	7.2	7.3	18.5	17.3	18.7
LW19	8.5	**7.7**	8.4	3.3	2.4	1.9
LW20	**7.2**	**7.3**	7.3	15.6	15.5	15.4
LW21	**7.2**	**7.2**	7.3	15.2	16.3	13.9
LW22	**7.3**	**7.3**	**7.3**	23.6	23.9	23.6
LW23	**5.3**	**5.3**	5.0	11.5	11.6	11.5
LW24	7.7	**7.6**	**7.6**	19.6	19.6	19.6
LW25	**6.2**	6.0	6.1	30.7	30.6	30.7
LW26	7.5	**7.1**	6.9	46.6	32.1	14.8
LW27	7.4	7.5	**7.2**	1.9	1.9	2.1
LW28	5.8	**6.9**	6.1	48.5	48.5	48.6
LW29	4.7	4.8	**6.0**	13.5	13.5	13.3
LW30	**6.8**	**6.8**	**6.8**	21.8	21.9	20.9
LW31	**7.8**	**7.8**	6.2	12.4	12.4	12.9
LW32	7.8	**7.7**	**7.7**	7.8	7.9	8.0
LW33	**7.8**	**7.8**	7.9	13.4	13.4	13.4
LW34	6.9	7.3	**7.0**	19.5	19.9	19.5
LW35	7.5	7.5	**7.4**	10.2	10.2	10.1
LW36	5.4	5.6	**5.7**	13.7	13.8	13.8

De groen gemarkeerde cellen/waarden geven aan dat de waarde zich in de als normaal veronderstelde range bevindt; voor de pH is dat tussen 6.5 en 7.5 en voor de EC is dat maximaal 18 mS/cm; n.b. = niet bekend. De vetgedrukte pH waarden (in groter lettertype) zijn de waarden die gebruikt zijn in Figuur 4.

Bijlage 3: Temperatuur waswater en omgeving

Op locatie gemeten water- en omgevingstemperatuur

Nummer	Temperatuur waswater (°C)			Temperatuur omgeving (°C)		
	Monster A	Monster B	Monster C	Stallucht	Werkruimte	Nabij pomp
LW1	n.b.	n.b.	**20.6**	24.0	24.2	**24.9**
LW2	20.1	n.b.	**20.2**	n.b.	**21.9**	n.b.
LW3	20.0	**20.3**	19.1	**31.5**	21.2	20.6
LW4	**23.4**	23.1	22.8	**27.0**	n.b.	n.b.
LW5	**21.0**	20.6	20.6	**22.2**	n.b.	21.5
LW6	19.9	**20.0**	19.0	**22.9**	n.b.	n.b.
LW7	21.5	21.4	**21.6**	**25.9**	n.b.	n.b.
LW8	20.0	19.8	**20.1**	**24.0**	n.b.	**24.0**
LW9	**20.9**	20.6	20.3	**24.3**	n.b.	n.b.
LW10	19.5	**19.7**	19.3	**20.0**	n.b.	**20.0**
LW11	**22.1**	21.7	22.0	**23.1**	n.b.	22.0
LW12	21.1	21.2	**21.3**	**26.0**	20.0	n.b.
LW13	**19.5**	19.0	19.0	**22.0**	19.0	n.b.
LW14	19.5	19.3	**19.6**	**23.0**	n.b.	**23.0**
LW15	**21.5**	21.3	**21.5**	**28.0**	n.b.	23.5
LW16	21.5	21.3	**21.7**	**27.7**	23.0	23.3
LW17	21.5	21.6	**21.7**	**25.0**	n.b.	23.0
LW18	23.3	23.4	**23.5**	28.3	**30.0**	29.0
LW19	16.7	**17.6**	17.2	**20.0**	**20.0**	**20.0**
LW20	20.0	19.9	**20.3**	23.5	**24.6**	24.2
LW21	**19.5**	19.0	18.5	22.0	n.b.	**22.6**
LW22	19.8	19.5	**19.9**	**23.8**	n.b.	21.1
LW23	20.0	19.9	**20.1**	**24.7**	n.b.	n.b.
LW24	**20.7**	20.0	20.0	**25.2**	22.0	n.b.
LW25	19.8	19.8	**19.9**	24.0	24.0	**25.0**
LW26	**21.7**	21.5	**21.7**	24.9	n.b.	**27.0**
LW27	**19.4**	19.0	19.2	**24.4**	n.b.	22.0
LW28	17.3	**17.7**	16.9	**20.0**	17.0	**20.0**
LW29	**19.4**	18.5	18.9	**23.0**	n.b.	22.0
LW30	19.0	19.0	**19.6**	**24.0**	**24.0**	**24.0**
LW31	**19.9**	19.7	18.2	**22.0**	n.b.	20.0
LW32	**20.1**	20.0	19.9	n.b.	20.0	**24.0**
LW33	**18.9**	18.3	18.5	**20.0**	n.b.	**20.0**
LW34	18.2	18.5	**18.7**	**23.0**	19.0	n.b.
LW35	21.3	21.6	**21.6**	23.0	23.0	**24.0**
LW36	21.1	21.0	**21.2**	**25.0**	n.b.	22.0

De vetgedrukte temperatuurwaarden (in groter lettertype) zijn de waarden die gebruikt zijn in Figuur 5 en 6; n.b. = niet bekend.

To explore the potential of nature to improve the quality of life

Wageningen UR Livestock Research
Postbus 338
6700 AH Wageningen
T 0317 48 39 53
info.livestockresearch@wur.nl
www.wageningenUR.nl/livestockresearch

Livestock Research Rapport 891

Wageningen UR Livestock Research ontwikkelt kennis voor een zorgvuldige en renderende veehouderij, vertaalt deze naar praktijkgerichte oplossingen en innovaties, en zorgt voor doorstroming van deze kennis. Onze wetenschappelijke kennis op het gebied van veehouderijsystemen en van voeding, genetica, welzijn en milieu-impact van landbouwhuisdieren integreren we, samen met onze klanten, tot veehouderijconcepten voor de 21e eeuw.

De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 9.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.